

## AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTINOCICEPTIVO E ANTIALODÍNICO DE UM NOVO DERIVADO DE PIRIDINA EM CAMUNDONGOS: ENVOLVIMENTO DO SISTEMA OPIÓIDE

CAREN ALINE RAMSON DA FONSECA<sup>1</sup>; ANGÉLICA SCHIAVOM REIS <sup>2</sup>; JAINI JANKE PALTIAN<sup>3</sup>; THIAGO JACOBSEN PEGLOW<sup>4</sup>; CRISTIANE LUCHESE<sup>5</sup>; ETHEL ANTUNES WILHELM<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [carenramson@hotmail.com](mailto:carenramson@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [ge\\_schiavon@hotmail.com](mailto:ge_schiavon@hotmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [jaini\\_paltian@hotmail.com](mailto:jaini_paltian@hotmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [thiago\\_lasol@yahoo.com.br](mailto:thiago_lasol@yahoo.com.br)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – [cristiane\\_luchese@yahoo.com.br](mailto:cristiane_luchese@yahoo.com.br) (coorientadora)

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – [ethelwilhelm@yahoo.com.br](mailto:ethelwilhelm@yahoo.com.br) (orientadora).

### 1. INTRODUÇÃO

A dor pode ser descrita como uma experiência emocional e sensorial desagradável associada com uma lesão tecidual real ou potencial (IASP, 1994). Estudos epidemiológicos demonstraram que a prevalência mundial da dor é de aproximadamente 30% (SIQUEIRA et al., 2015; ELZAHAF et al., 2012). Além disso, diversos fármacos disponíveis para o tratamento desta patologia apresentam efeitos adversos que limitam o seu uso (LACY et al., 2013). Diante disso, muitos esforços têm sido dedicados na busca por moléculas inovadoras que possuam atividade antinociceptiva (PINZ et al., 2016; WILHELM et al., 2017).

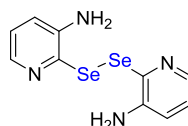
Nesse sentido, um crescente número de evidências demonstram que os compostos de piridina atraem muita atenção no campo do desenvolvimento de novos fármacos (UMEI et al., 2017). Paralelamente, compostos orgânicos de selênio vêm se destacando pelo fato de possuírem síntese simples e atividades farmacológicas relevantes (NOGUEIRA e ROCHA, 2011). Sendo assim, moléculas derivadas de piridina contendo selênio podem ser uma alternativa na busca de novos compostos com propriedades antinociceptivas.

Dessa forma, nosso grupo de pesquisa tem se dedicado ao estudo da síntese e das propriedades farmacológicas do composto disseleneto de bis-(3-amino-2-piridina) (BAPD). Portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a possível ação deste composto no tratamento da nocicepção e da alodínia em camundongos, bem como, o envolvimento da via opióide nesta ação.

### 2. METODOLOGIA

Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas do Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) (CEEAA 1289-2016). Foram utilizados camundongos machos adultos da raça Swiss provenientes do Biotério da UFPEL. O composto disseleneto de bis-(3-amino-2-piridina), denominado BAPD (Figura 1) foi sintetizado no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da UFPEL (PEGLOW et al., 2017).

A fim de avaliar a ação antinociceptiva e anti-alodínica do BAPD realizou-se os testes da placa quente e do *von frey* em camundongos. Além disso, previamente a estes testes os animais foram submetidos ao teste do campo aberto (WALSH e CUMMINS, 1976) com a finalidade de analisar as atividades locomotora e exploratória.



**Figura 1.** Estrutura química do BAPD.

O teste da chapa quente é um modelo sensível para drogas analgésicas que atuam a nível central. Para este teste, os animais foram colocados sobre uma chapa de metal previamente aquecida a  $55 \pm 1$  °C. Este teste foi realizado conforme descrito por WOOLFRE e MACDONALD (1944). A latência da resposta nociceptiva como lambear, sacudir as patas ou saltar, foi registrado como o tempo de reação. Cada animal, antes dos tratamentos, foi submetido a um teste para avaliação da nocicepção basal. Vinte e quatro horas após, os camundongos foram tratados com BAPD (0,1 - 50 mg/kg) ou veículo (óleo de canola, 10 ml/kg), ambos por via oral (v.o.). Trinta minutos após os tratamentos, os animais foram colocados sobre a chapa quente. A latência da resposta nociceptiva foi calculada de acordo com a fórmula:  $\Delta t$  (s) = latência pós-droga - latência pré-droga.

Para avaliar o possível envolvimento do sistema opióide na ação antinociceptiva utilizou-se o teste da chapa quente. Os animais foram previamente tratados com a naloxona (5 mg/kg, subcutânea, s.c.), um antagonista de receptores opióides; ou solução salina (NaCl a 0,9%). Após 15 minutos administraram-se o BAPD (50 mg/kg, v.o.), morfina (2,5 mg/kg, s.c.) ou veículo (óleo de canola, v.o., 10 ml/kg). Os tempos de pré-tratamento, as doses e a via de administração foram realizados de acordo com WILHELM et al. (2009).

Além disso, investigou-se a ação do BAPD frente à reação imunológica induzida pela injeção intraplantar (i.pl.) do complexo adjuntante de freud (CFA). O teste para determinar a hiperalgesia mecânica foi realizado de acordo com BORTOLANZA et al. (2002) e a frequência de retirada da pata foi determinada por meio dos filamentos de *von frey* (FVF). Os camundongos receberam uma injeção i.pl. de CFA (1 mg/ml de *Mycobacterium tuberculosis*, 20 µl) na pata posterior direita e solução salina (0,9%, 20 µl/ pata) na pata esquerda e após 24 h a resposta nociceptiva foi verificada por meio do teste do *von frey*. Posteriormente, os animais receberam o veículo (óleo de canola, v.o., 10 ml/kg) ou BAPD (50 mg/kg, v.o.) e a frequência de resposta de retirada da pata foi registrada em 0,5; 2; 4; 6 e 8 h após o tratamento. A hiperalgesia mecânica em camundongos foi medida usando um FVF de 1 g.

Os dados foram analisados por ANOVA de uma via ou de duas vias seguido pelo teste de Newman-Keuls quando apropriado. Para o teste do *von frey*, os dados foram analisados usando teste t não pareado seguido pelo teste de Mann-Whitney. Os dados foram expressos como média  $\pm$  S.E.M. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando  $P < 0,05$ .

## 2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que o tratamento com o BAPD reverteu a nocicepção induzida por estímulos térmicos (Tabela 1) sem causar distúrbios locomotores (dados não mostrados). Nas doses de 25 e 50 mg/kg o BAPD aumentou o tempo de latência no teste da chapa quente em 24% e 19%, respectivamente. Como demonstrado na figura 2, o pré-tratamento com a naloxona protegeu contra o efeito antinociceptivo da morfina e do BAPD, com isso

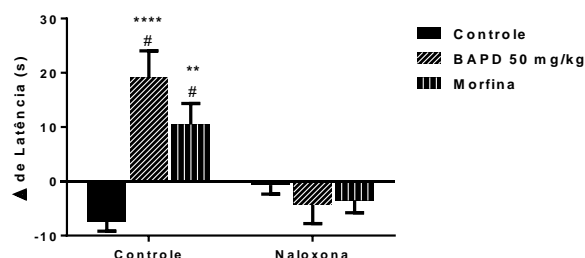
demonstra-se o envolvimento do sistema opióide na ação antinociceptiva do composto.

Além disso, o BAPD (50 mg/kg) demonstrou atividades antialodínicas contra a hiperalgesia mecânica induzida por CFA a partir de 0,5 h e este efeito manteve-se até 6h após o tratamento, demonstrando uma inibição máxima de 91% (Figura 3).

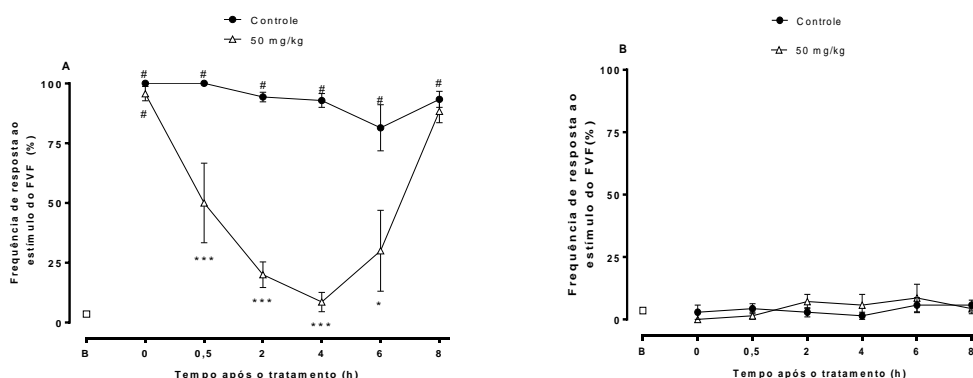
**Tabela 1.** Efeito do BAPD no teste da placa quente em camundongos.

Grupos	$\Delta$ Latência (s)
Controle	$-6,0 \pm 1,9$
BAPD (0,1 mg/kg)	$5,6 \pm 2,3$
BAPD (5 mg/kg)	$-0,5 \pm 0,9$
BAPD (25 mg/kg)	$17,6 \pm 3,6^{***}$
BAPD (50 mg/kg)	$12,7 \pm 6,0^{**}$

Cada coluna representa a média  $\pm$  S.E.M. de 6 camundongos em cada grupo. Os asteriscos indicam níveis de significância quando comparados ao grupo controle (\*\*\*)  $P < 0,001$ ; (\*\*)  $P < 0,01$ . A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls.



**Figura 2.** Efeito da naloxona (5 mg / kg, s.c.) na ação antinociceptiva do BAPD (50 mg / kg, v.o.) ou morfina (2,5 mg / kg, s.c.) no teste de placa quente. Os asteriscos indicam níveis de significância quando comparados ao grupo controle (\*\*\*\*)  $P < 0,0001$ ; (\*\*)  $P < 0,01$  e (#)  $P < 0,05$  denotam níveis de significância quando comparados ao grupo naloxona. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de duas vias seguido pelo teste de Newman-Keuls.



**Figura 3.** Efeito do BAPD na hiperalgesia mecânica induzida por CFA na pata posterior direita (A) e na pata posterior esquerda (B) em camundongos. Os asteriscos indicam níveis de significância quando comparados ao grupo controle (\*\*\*)  $P < 0,001$ ; (\*\*)  $P < 0,01$  e (#)  $P < 0,0001$  indicam níveis de significância quando comparados ao basal. A análise estatística foi realizada utilizando teste t não pareado seguido pelo teste Mann Whitney.

#### 4. CONCLUSÕES

O composto BAPD demonstrou efeitos antinociceptivos e antialodínicos em camundongos, bem como, o envolvimento da via opióide neste efeito. Entretanto, mais estudos são necessários para avaliar os mecanismos envolvidos nesta ação.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORTOLANZA, L. B.; FERREIRA, J.; HESS, S. C.; DELLE MONACHE, F.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Anti-allodynic action of the tormentic acid, a triterpene isolated from plant, against neuropathic and inflammatory persistent pain in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 453, n. 2-3, p. 203-208, 2002.
- ELZAHAF, R. A.; TASHANI, O. A.; UNSWORTH, B.A.; JOHNSON, M.I. The prevalence of chronic pain with an analysis of countries with a Human Development Index less than 0.9: a systematic review without meta-analysis. **Current Medical Research and Opinion**, v. 28, n. 7, p. 1221-1229, 2012.
- LACY, B. E.; WANG, F.; BHOWAL, S.; SCHAEFER, E. On-demand hyoscine butylbromide for the treatment of self-reported functional cramping abdominal pain. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 48, n. 8, p. 926-935, 2013.
- NOGUEIRA, C.W.; ROCHA, J.B. Toxicology and pharmacology of selenium: emphasis on synthetic organoselenium compounds. **Archives of Toxicology**, v. 85, n.11, p. 1313-1359, 2011.
- PEGLOW, T. J.; SCHUMACHER, R. F.; CARGNELUTTI, R.; ANGÉLICA, S.; LUCHESE, C.; WILHELM, E. A.; PERIN, G. Preparation of Bis(2-pyridyl) diselenide Derivatives: Synthesis of Selenazolo[5,4- b ]pyridines and Unsymmetrical Diorganyl Selenides, and Evaluation of Antioxidant and Anticholinesterasic Activities. **Tetrahedron Letters**, v. 58, n. 38, p. 3734-3738, 2017.
- PINZ, M.; REIS, A. S.; DUARTE, V. DA ROCHA, M. J.; GOLDANI, B. S.; ALVES, D.; SAVEGNAGO, L.; LUCHESE, C.; WILHELM, E. A. 4-Phenylselenyl-7-chloroquinoline, a new quinoline derivative containing selenium, has potential antinociceptive and anti-inflammatory actions. **European Journal Pharmacology**, v. 780, p. 122-128, 2016.
- SIQUEIRA, S.R. D. T.; VILELA, T. T.; FLORINDO, A. A. Prevalence of headache and orofacial pain in adults and elders in a Brazilian community: an epidemiological study. **Gerodontology**, v. 32, n. 2, p. 123-131, 2015.
- WALSH, R. N.; CUMMINS, R. A. The open-field test: a critical review. **Psychological Bulletin**, v. 83, n. 3, p. 482-504, 1976.
- UMEI, K.; NISHIGAYA, Y.; KONDO, A.; TATANI, K.; TANAKA, N.; KOHNO, Y.; SETO, S. Novel pyrazolo [1, 5-a] pyridines as orally active EP 1 receptor antagonists: Synthesis, structure-activity relationship studies, and biological evaluation. **Bioorganic & medicinal Chemistry**, v. 25, n. 9, p. 2635-2642, 2017.
- WILHELM, E. A.; JESSE, C. R.; BORTOLATTO, C. F.; NOGUEIRA, C. W.; SAVEGNAGO, L. Antinociceptive and antiallodynic effects of 3-alkynyl selenophene on different models of nociception in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 93, n. 4, p. 419-425, 2009.
- WILHELM, E. A.; FERREIRA, A. T.; PINZ, M. REIS, A. S.; VOGT, A. G.; STEIN, A. L.; ZENI, G.; LUCHESE, C. Antioxidant effect of quinoline derivatives containing or not selenium: Relationship with antinociceptive action quinolines are antioxidant and antinociceptive. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 1, p. 457-467, 2017.
- WOOLFRE, H. G.; MACDONALD, A. D. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 80, n. 3, p. 300-307, 1944.